

(D7) 0096 4255-5



**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

|   |    |  |
|---|----|--|
| (51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :<br><br>A61L 24/10 | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 00/24436</b><br><br>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. Mai 2000 (04.05.00) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/08128                         |    | (81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).     |
| (22) Internationales Anmeldedatum: 27. Oktober 1999 (27.10.99)            |    |  |
| (30) Prioritätsdaten:<br>198 49 589.7 27. Oktober 1998 (27.10.98) DE      |    | Veröffentlicht<br><i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>  |

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten ausser US*): GLATT PROCESS TECHNOLOGY GMBH [DE/DE]; Bühlmühle, D-79589 Binzen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): PRASCH, Armin [DE/DE]; Beethovenstrasse 20, D-79100 Freiburg (DE). LUY, Bernhard [DE/DE]; Landsknechtstrasse 13, D-79102 Freiburg (DE).

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR; Mozartstrasse 17, D-80336 München (DE).

(54) Title: FIBRIN TISSUE ADHESIVE FORMULATION AND METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF

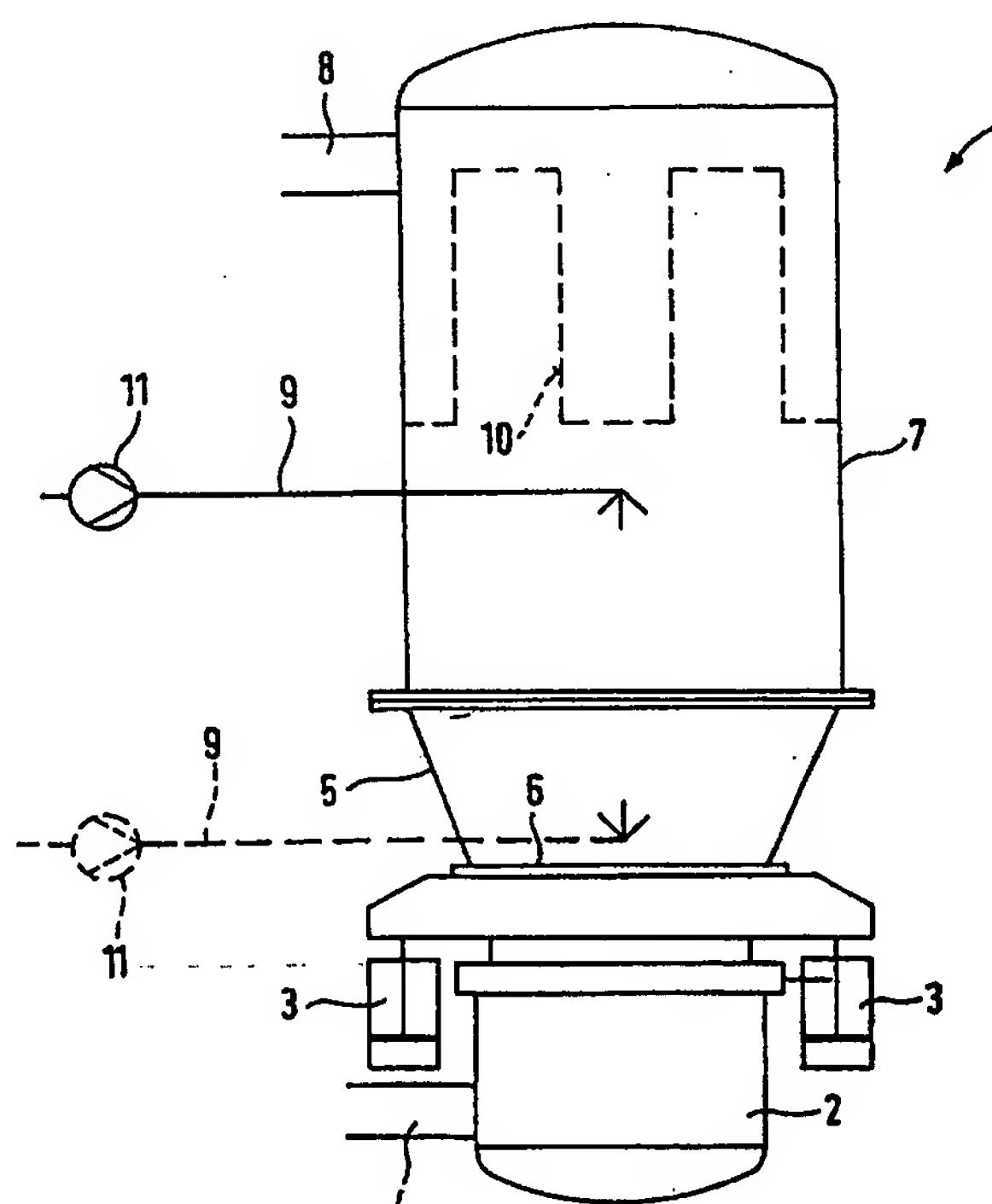
(54) Bezeichnung: FIBRIN-GEWEBEKLEBER-FORMULIERUNG UND VERFAHREN ZU DESSEN HERSTELLUNG

(57) Abstract

The present invention relates to a fibrin tissue adhesive formulation containing thrombin, fibrinogen and factor XIII, wherein the thrombin and fibrinogen with factor XIII are present as a mixture in the form of a flowable solid granulate and the granulate has a particle size of 20–1000 µm. The granulate can consist of multiple layers with a sugar core and a fibrinogen layer and an outer layer made of thrombin.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Fibrin-Gewebekleber-Formulierung, enthaltend Thrombin, Fibrinogen und Faktor XIII, wobei das Thrombin und Fibrinogen mit Faktor XIII als Gemisch in rieselfähiger fester Granulatform vorliegt und das Granulat eine Partikelgröße von 20–1000 µm aufweist. Das Granulat kann auch mehrschichtig sein mit einem Kern aus Zuckern, einer Fibrinogenschicht und einer äußeren Schicht aus Thrombin.



**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

|    |                              |    |                                   |    |   |    |                                |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien                     | ES | Spanien                           | LS | Lesotho   | SI | Slowenien                      |
| AM | Armenien                     | FI | Finnland                          | LT | Litauen   | SK | Slowakei                       |
| AT | Österreich                   | FR | Frankreich                        | LU | Luxemburg                                       | SN | Senegal                        |
| AU | Australien                   | GA | Gabun                             | LV | Lettland  | SZ | Swasiland                      |
| AZ | Aserbaidschan                | GB | Vereinigtes Königreich            | MC | Monaco  | TD | Tschad                         |
| BA | Bosnien-Herzegowina          | GE | Georgien                          | MD | Republik Moldau                                 | TG | Togo                           |
| BB | Barbados                     | GH | Ghana                             | MG | Madagaskar                                      | TJ | Tadschikistan                  |
| BE | Belgien                      | GN | Guinea                            | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan                   |
| BF | Burkina Faso                 | GR | Griechenland                      | ML | Mali  | TR | Türkei                         |
| BG | Bulgarien                    | HU | Ungarn                            | MN | Mongolei  | TT | Trinidad und Tobago            |
| BJ | Benin                        | IE | Irland                            | MR | Mauretanien                                     | UA | Ukraine                        |
| BR | Brasilien                    | IL | Israel                            | MW | Malawi  | UG | Uganda                         |
| BY | Belarus                      | IS | Island                            | MX | Mexiko  | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada                       | IT | Italien                           | NE | Niger   | UZ | Usbekistan                     |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan                             | NL | Niederlande                                     | VN | Vietnam                        |
| CG | Kongo                        | KE | Kenia                             | NO | Norwegen  | YU | Jugoslawien                    |
| CH | Schweiz                      | KG | Kirgisistan                       | NZ | Neuseeland                                      | ZW | Zimbabwe                       |
| CI | Côte d'Ivoire                | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen   |    |                                |
| CM | Kamerun                      | KR | Republik Korea                    | PT | Portugal  |    |                                |
| CN | China                        | KZ | Kasachstan                        | RO | Rumänien  |    |                                |
| CU | Kuba                         | LC | St. Lucia                         | RU | Russische Föderation                            |    |                                |
| CZ | Tschechische Republik        | LI | Liechtenstein                     | SD | Sudan   |    |                                |
| DE | Deutschland                  | LK | Sri Lanka                         | SE | Schweden  |    |                                |
| DK | Dänemark                     | LR | Liberia                           | SG | Singapur  |    |                                |

## Fibrin-Gewebekleber-Formulierung und Verfahren zu dessen Herstellung

5

Die Erfindung betrifft eine geeignete Formulierung einer stabilen, pulverförmigen, möglichst staubfreien und dadurch gut rieselfähigen, festen Darreichungsform eines Fibrin-Gewebeklebers zum Einsatz bei der Blutstillung, Wundversorgung (-heilung), Gewebeklebung und Nahtsicherung bei äußeren und inneren chirurgischen Operationen am Menschen, wobei sich die Formulierung mittels eines Wirbelschicht- oder Sprühtrocknungsverfahrens oder durch eine geeignete Kombination beider Trocknungsverfahren darstellen läßt.

10

15

Die Blutgerinnung läuft im gesunden Körper bei Tieren (Säugetiere) und beim Menschen natürlich in Form einer Co-Enzym/Enzym gesteuerten Kaskadenreaktion ab.

20

Der Hauptvorgang besteht darin, daß das (in Wasser, physiologischer Kochsalzlösung und auch im Blut) lösliche Fibrinogen in das unlösliche Fibrin übergeführt

wird. Hierfür ist das proteolytische Enzym Thrombin notwendig, das durch den Prothrombinaktivator, einem Gemisch aus dem Stuart-Prower-Faktor (Faktor X) und dem Proaccelerin (Faktor V) bei Anwesenheit von Calcium-Ionen aus dem inaktiven Prothrombin (Faktor II) gebildet wird. Das Thrombin spaltet das in der Regel als Monomer (zu 75 %) mit einer Molmasse von 340.000 Dalton, als Di-Mer (zu 15 %) und als Polymer (zu 10 %) vorliegende Fibrinogen in Fibrin und bildet dadurch lange Molekülketten. Diese werden durch den fibrinstabilisierenden Faktor XIII (und bei Anwesenheit von Calcium-Ionen) zu einem stabilen, quervernetzten Fibrinpolymer verknüpft. Für diese biochemische Reaktion ist das reibungslöse Zusammenspiel einer Reihe von Faktoren (Gerinnungsfaktoren) notwendig. Im gesunden Organismus liegen die benötigten Gerinnungsfaktoren in ausreichender Menge in einem labilen Gleichgewicht vor.

Störungen dieses Gleichgewichts können lebensgefährlich sein. Störungen des Gleichgewichts können neben dem erblichen Mangel von bereits einem Gerinnungsfaktor (z.B. Hämophilie), bei starken Gewebeblutungen, bei großflächigen, diffusen Blutungen (Weichgewebeblutungen), die nicht durch einen mechanischen Verschluß größerer arterieller oder venöser Gefäße gehemmt werden können, oder durch antikoagulativ wirkende, therapeutisch verabreichte Medikamente zur Thrombembolieprophylaxe verursacht werden. Diese Störungen können durch sog. Fibrin-Gewebekleber, einem Gemisch aus Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und Human-Albumin sowie Calciumchlorid, ausgeglichen werden, wodurch es zu einer lokalen Blutstillung kommt. Fibrin-Gewebekleber kommen deshalb bei vielen verschiedenen Einsatzgebieten zur Anwendung.

Bei tumorchirurgischen Eingriffen insbesondere in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie sowie im gesamten HNO-Bereich (z.B. Zungenkarzinom-Resektion) kommt es häufig zu schwer beherrschbaren diffusen Blutungen. Die 5 üblicherweise häufig eingesetzte elektrochirurgische Blutstillung durch Elektrokoagulation hinterläßt nach der Koagulation ausgedehnte thermische Gewebekrosen, die insbesondere in diesen Bereichen äußerst 10 unerwünscht sind.

In der plastisch-ästhetischen Gesichts- und Halschirurgie ("face-lifting") ist die Blutstillung durch Fibrinkleber unverzichtbar, da die Elektrokoagulation 15 wegen der anatomischen Nachbarschaft der Behandlungsstelle zum Verlauf des Gesichtsnerves eine Gefährdung des Gesichtsnerves darstellt und diesen schädigen kann.

20 Des weiteren ist in der Notfallbehandlung bei zahnärztlich-chirurgischen Eingriffen eine Behandlung mit einem Fibrin-Gewebekleber bei nicht sistierenden Blutungen angezeigt. Dies gilt auch bei Patienten, die wegen eines bestimmten Grundleidens antikoagulativ 25 medikamentös behandelt werden (z.B. Therapie zur Embolieprophylaxe durch Heparine) und trotz des damit verbundenen Risikos der gehemmten Blutgerinnung (verlängerte Blutgerinnung, Thrombozytenfunktionshemmung) operiert werden müssen. In diesem Fall sind deshalb 30 durch die lokale Anwendung eines Fibrin-Gewebeklebers Maßnahmen zu ergreifen, die eine Blutstillung gewährleisten und postoperative Blutungen vermeiden. Dies kann z.B. auch bei Operationen an inneren Organen (z.B. Leber, Milz) erforderlich werden. Der Gewebekleber kann dabei über einen Doppelkatheter von außen 35

endoskopisch zugeführt werden.

Weiterhin ist der Einsatz eines Fibrin-Gewebeklebers bei der Notfallversorgung großflächiger Wunden durch 5 Verbrennungen dritten Grades sowie bei großflächigen Schürfwunden angezeigt.

Bei der Darreichung und Anwendung eines Fibrin-Gewebe klebers ist darauf zu achten, daß Fibrinogen und 10 Thrombin erst direkt am Ort der Blutung (d.h. "in der Wunde") zusammengebracht werden, da die einsetzende Gerinnung spontan bei Anwesenheit der Wundflüssigkeit einsetzt. Benachbarte Stellen sind dabei gut abzudecken. Voraussetzung für die Gerinnung ist die freie 15 Beweglichkeit der einzelnen beteiligten Moleküle z.B. in Wasser. Praktisch realisiert wird dies dadurch, daß z.B. die vier verschiedenen Komponenten (Fibrinogen-Faktor XIII-Konzentrat, Lösung für Fibrinogen, Thrombin-Konzentrat, Calcium-Chlorid-Lösung für 20 Thrombin) vor der Anwendung getrennt aufbewahrt werden und erst direkt an der Wunde in gegenseitigen Kontakt gebracht werden. Die Komponenten müssen jeweils steril verpackt werden und in einer geeigneten Form und unter definierten Bedingungen aufbewahrt 25 werden, so daß die Aktivität der einzelnen Proteine bzw. Enzyme durch die Lagerung nicht geschädigt wird. In der Regel wird dies so gelöst, daß die Proteinkonzentrate in gefriergetrockneter Form in kleinen Behältnissen vorliegen. In dieser Form sind sie bei 30 Kühlschrankbedingungen (4 bis 8 °C) für eine bestimmte Zeit und für eine kürzere Zeit auch bei Raumbedingungen (20 °C) lagerstabil. Gefriergetrocknet liegt das Konzentrat jedoch in fester, komprimierter und dadurch unbeweglicher Form, jedoch als löslicher 35 Feststoff vor. Deshalb müssen die Proteinkonzentrate

vor der Anwendung wieder vollständig in Lösung ge-  
bracht werden, um die gewünschte biochemische Reak-  
tion starten zu können (Fig. 1). Dies darf jedoch  
erst direkt an der Wunde erfolgen, so daß die Lösun-  
gen jeweils vorher getrennt voneinander vorbereitet  
werden müssen. Vor der Anwendung des Fibrin-Gewebe-  
klebers sollte dann die Wunde möglichst trocken sein,  
was bei großflächigen, diffusen Blutungen teilweise  
nur schwer erreichbar ist, um eine gute Fixierung des  
Gewebeklebers an Ort und Stelle zu ermöglichen. Die  
beiden Lösungen können jeweils über Injektionssprit-  
zen z.B. im gleichen Volumenverhältnis zugegeben wer-  
den. Dabei ist die Fibrinogen-Lösung zuerst auf die  
Wunde aufzubringen und möglichst sofort mit der  
Thrombin-Lösung zu überschichten. Die zu klebenden  
Teile sind dann so lange zu fixieren, bis eine vor-  
läufige Verfestigung eingetreten ist. Alternativ dazu  
gibt es mechanische Hilfen, z.B. in Form einer Dop-  
pelkammer-Injektionsspritze, über die beide Lösungen  
gleichzeitig auf die Wunde aufgetragen werden können.  
Weitere technische Hilfsmittel sind z.B. Spray-Tip-  
Systeme bei großflächigen Wunden, Doppelballonkathete-  
ter in der Urologie oder Doppelkatheter zur endosko-  
pischen Anwendung. Die Konzentration der Proteine in  
beiden Lösungen muß so eingestellt werden, daß Fibri-  
nogen im deutlichen Überschuß gegenüber Thrombin vor-  
liegt. Geeignete Verhältnisse sind gemäß dem Stand  
der Technik (z.B. 100:1) bekannt.

Dies macht deutlich, daß die Anwendung einerseits  
einer qualifizierten und konzentrierten Vorbereitung  
bedarf, die in Notfallsituationen teilweise nicht  
immer sichergestellt werden kann. Andererseits ist  
die Anwendung durch die umständliche und manuelle  
Handhabung des 2-Spritzen-Systems ebenfalls einge-

schränkt.

Aus der WO 97/44015 ist eine sprühgetrocknete Gewebekleber-Formulierung bekannt. Diese Mikro-  
5 partikel weisen jedoch eine sphärische Oberfläche auf und besitzen eine Korngröße von max. 20 µm. Dadurch ist dieses Produkt nicht rieselfähig und schlecht zu dosieren. Es hat sich gezeigt, daß dieses Produkt nicht nur bei seiner Anwendung staubt sondern auch  
10 eine schlechte Löslichkeit aufweist.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, eine Fibrin-Gewebekleber-Formulierung anzugeben, die in der Handhabung, Dosierung und Anwendung einfach  
15 ist und über längere Zeit problemlos aufbewahrt werden kann, so daß die Einsatzmöglichkeiten einer derartigen Fibrin-Gewebekleber-Formulierung gegenüber dem Stand der Technik deutlich erweitert werden.

20 Aufgabe der Erfindung ist es gleichfalls ein entsprechendes Verfahren zur Herstellung einer derartigen Fibrin-Gewebekleber-Formulierung anzugeben.

25 Die Aufgabe wird in bezug auf die Formulierung durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruches 1 und in bezug auf das Verfahren durch die kennzeichnenden Merkmale des Patentanspruches 15 gelöst.

30 Die Unteransprüche zeigen vorteilhafte Weiterbildungen auf.

Erfindungsgemäß wird somit vorgeschlagen, daß die Fibrin-Gewebekleber-Formulierung in fester rieselfähiger Form als Gemisch der verschiedenen Proteinkonzentrate vorliegt, wobei die Granulatgröße im Bereich  
35

zwischen 20 und 1000  $\mu\text{m}$  liegt und somit problemlos in der Handhabung und in der Anwendung ist. Erfindungswesentlich ist dabei, daß die in der Formulierung enthaltenen Granulate durch Trocknung der Proteinlösung in einer Wirbelschicht hergestellt werden, da es sich überraschenderweise gezeigt hat, daß mit diesen Verfahren eine so schonende Trocknung der Proteinlösungen bzw. Suspensionen möglich ist, daß sich ihre funktionalen Eigenschaften nicht ändern. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, daß das Granulat in rieselfähiger Form vorliegt, so daß eine exakte Dosierung möglich ist.

Die Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach der Erfindung weist damit weitreichende Vorteile gegenüber dem Stand der Technik auf. Die Erfindung zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß

- das Gemisch (= der Fibrin-Gewebekleber) nicht reagiert (d.h. die Gerinnung auslöst), solange es in dieser festen Form vorliegt;
- das Gemisch (= der Fibrin-Gewebekleber) in fester und jedoch gleichzeitig pulver- bzw. granulatförmigen, dadurch rieselfähigen und staubfreien Form vorliegt, wodurch das Gemisch direkt auf die zu versorgende Wunde aufgetragen werden kann, ohne daß von der Anwendung die Protein-Komponenten (Fibrinogen-Faktor XIII-Konzentrat und Thrombin-Konzentrat) in Lösung gebracht werden müssen;
- das Gemisch (= der Fibrin-Gewebekleber) sich in der Wundflüssigkeit gut, vollständig und schnell löst;
- das Gemisch (= der Fibrin-Gewebekleber), nachdem bzw. während es sich in der Wundflüssigkeit ge-

löst hat bzw. löst, die biochemische Reaktion der Blutgerinnung auslöst und eine sich fixierende feste Schicht bildet und damit eine geeignete Wundversorgung darstellt;

5        -     durch die Möglichkeit, die Partikelgröße vergleichsweise einfach variiieren zu können, neue Anwendungsmöglichkeiten resultieren. Beispielsweise in der Form, daß es möglich wird, durch Variation der Partikelgröße bei der Dosierung den Wundkontakt entweder stark lokalisieren zu können (bei homogen verteilten, größeren Partikeln) oder auch großflächig in einer dünnen Pulverschicht (z.B. durch Spray-Systeme bei feinem Granulat) zu ermöglichen;

10      -     sich im Gemisch als Granulatmischung unterschiedliche Mischungsverhältnisse beider Komponenten leicht einstellen lassen und so die Eigenschaften des Fibrin-Gewebeklebers (Löslichkeit, Einsetzen der Gerinnung) gezielt eingesetzt werden können;

15      -     durch die Tatsache, daß sich Pulver sehr homogen vermischen läßt, der "content uniformity" gut sicherstellen läßt, auch wenn ein breites Partikelgrößenspektrum vorliegt (d.h. das unabhängig von Partikeleigenschaften wie Korngröße Dichte, und andere immer das gewünschte Mischungsverhältnis besteht).

20      -    

25      -    

30      -     Die erfindungsgemäße Fibrin-Gewebekleber-Formulierung enthält bevorzugt noch ein Calciumsalz z.B.  $\text{CaCl}_2$  und kann dabei so aufgebaut sein, daß entweder die einzelnen Proteinlösungen bzw. Suspensionen, d.h. die Fibrinogen-Faktor XIII-Lösung bzw. Suspension und die Thrombin/ $\text{CaCl}_2$ -Lösung bzw. Suspension separat getrocknet und dann die getrockneten Granulate gemischt

35      -

werden, oder daß bei der Trocknung der Proteinlösung zuerst das Fibrinogen getrocknet und dann auf dieses so hergestellte Granulat das Thrombin aufgebracht wird. Auch ist ein Aufbau möglich, bei dem das

5 Thrombin den Kern bildet.

Bei der Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach der Erfindung ist weiterhin hervorzuheben, daß diese je nach Anwendungsfall eingestellt werden kann. So kann

10 in der Gewebekleber-Formulierung zum einen das Mischungsverhältnis von Fibrinogen zu Thrombin gezielt je nach Anwendungsfall ausgewählt werden, zum anderen ist auch eine Steuerung der Partikelgröße möglich.

15 Bei der Fibrin-Gewebekleber-Formulierung bei der jeweils zuerst separate Granulate der jeweiligen Proteine hergestellt und diese dann vermischt werden, ist es auch möglich, daß das Granulat aus einem Kern, aus einem Trägermaterial und einer darauf aufgebrachten Proteinschicht besteht. Das Trägermaterial kann

20 z.B. aus wasserlöslichen Zuckern und/oder Zuckeraustauschstoffen und/oder biologischen Transportsubstanzen bestehen. Beispiele sind Mannitol oder Serum-Albumin.

25 Bevorzugterweise wird die Formulierung so hergestellt, daß die Partikelgröße des Granulates im Bereich von 30 - 500  $\mu\text{m}$ , bevorzugt 40 - 200  $\mu\text{m}$  liegt.

30 Fibrin-Gewebekleber-Formulierungen mit einem Kern, d.h. mit einem Trägermaterial sind auch bei den Mischgranulaten bevorzugt. In diesem Fall besteht dann das Granulat aus einem Kern, z.B. wieder aus Mannitol, auf dem dann eine Fibrinogenschicht aufgebracht ist, über der dann die Thrombinschicht ange-

35

ordnet ist. Diese Mischgranulate haben demnach einen dreischichtigen Aufbau. Selbstverständlich ist es gemäß der vorliegenden Erfindung auch möglich, daß diese Mischgranulate ohne Kern hergestellt werden.

5 Bei der Ausführungsform mit den Mischgranulaten ist es weiterhin bevorzugt, wenn zwischen der Fibrinogenschicht und der Thrombinschicht eine Sperrsicht angeordnet ist. Diese Sperrsicht muß zum einen die Fibrinogenschicht von der Thrombinschicht trennen und  
10 muß zum anderen aber auch gut wasserlöslich sein. Materialien für diese Sperrsicht müssen deshalb die beiden vorstehend genannten Kriterien erfüllen. Beispiele hierfür sind niedermolekulare Polyvinylpyrrolidone oder auch Cellulosederivate oder auch Kohlehydrate, z.B. Dextrosederivate.  
15

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der vorstehend beschriebenen Fibrin-Gewebekleber-Formulierung.

20 Erfindungsgemäß wird vorgeschlagen, die im Fibrin-Gewebekleber typischerweise vorkommenden Proteine Fibrinogen, Thrombin, Faktor XIII sowie Calciumsalz in einer Wirbelschichtapparatur, schonend getrocknet werden, so daß dadurch ein rieselfähiger, granulat-förmiger Feststoff entsteht. Eine geeignete Vorrichtung hierfür ist in der DE 44 41 167 beschrieben. Auf diesen Offenbarungsgehalt wird deshalb Bezug genommen.  
25

30 Bevorzugt wird das Verfahren so ausgeführt, daß das Fluidisationsgas durch die Wirbelschichtkammer von unten nach oben geführt wird und die zu trocknende Flüssigkeit (Lösung oder Suspension) von oben (Top-Spray), von unten (Bottom-Spray) oder auch seitlich  
35

(Rotor-Wirbelschicht) über ein Sprühsystem eingesprührt wird. Das Fluidisationsgas hat gleichzeitig die Aufgabe, in der Wirbelkammer vorliegendes Produkt zu verwirbeln, die zum Verdunsten der Sprühflüssigkeit (Wasser oder organisches Lösungsmittel) benötigte Wärme dem Sprühstrahl oder dem feuchten Produkt zuzuführen und gleichzeitig die verdunstete Flüssigkeitsmenge aufzunehmen und abzutransportieren. Der Austrag des getrockneten Produktes wird einerseits durch die Wahl einer geeigneten Fluidisationsgeschwindigkeit (kleiner als die rechnerisch und experimentell ermittelbare sog. Austragsgeschwindigkeit für das Produkt), andererseits auch durch einen im oberen Bereich der Wirbelkammer vorhandenen und regelmäßig abreinigbaren Produktrückhaltefilter oder auch durch einen anderen, aus dem Stand der Technik bekannten Produktabscheider (wie z.B. ein Zyklonabscheider) verhindert.

Vorgegangen werden kann dabei z.B. derart, daß in der Wirbelkammer das Trägermaterial vorgelegt wird auf das dann z.B. aus wässriger Protein-Lösung bzw. Suspension die Lösung/Suspension aufgesprührt wird. Die im Sprühkegel fein zerstäubten Flüssigkeitströpfchen treffen dabei auf das aufgewirbelte pulverige Trägermaterial und trocknen dort aufgrund der für Wirbelschichtverfahren idealen Wärme- und Stoffübergangsverhältnisse, die im wesentlich eine Folge der sehr großen spezifischen Partikeloberflächen des verwirbelten Produktes sind. Auf dem Träger lagern sich dann die in der Sprühflüssigkeit vorhandenen Proteine als Feststoff infolge adsorptiver Kräfte an. Der Träger ist idealerweise so beschaffen, daß er einerseits inert gegenüber den Proteinen ist (d.h. es darf zu keiner Wechselwirkung mit dem Pro-

teinstrukturen kommen, was die funktionellen Eigen-  
schaften bleibend ändern würde) und daß gleichzeitig  
die Löslichkeit der Proteine in Wasser, Wundflüssig-  
keit oder physiologischer Kochsalzlösung einge-  
5 schränkt oder verhindert wird. In Frage kommen des-  
halb z.B. gut wasserlösliche Zucker (z.B. Mannitol)  
oder auch andere, gemäß dem Stand der Technik als gut  
wasserlösliche Trägerstoffe bekannte Substanzen. Die-  
se müssen jedoch, aufgrund der sehr spezifischen Ei-  
10 genschaften der Proteine, auf deren Eignung einzeln  
bewertet werden. Als Träger auch geeignet sind Sub-  
stanzen, die bereits im biologischen System als  
Transportsysteme fungieren und die gleichzeitig des-  
halb eingesetzt werden können, da sie in den natürli-  
15 chen, biologischen Systemen neben den gewünschten  
Proteinen des Fibrin-Gewebeklebers vorliegen. Als  
Beispiel kann hierfür Serum-Albumin humanen Ursprungs  
oder in rekombinanter Form genannt werden.

20 Während des Sprühens kommt es aufgrund der im Parti-  
kel langsam zunehmenden Produktfeuchte zur Ausbildung  
von Agglomeraten oder Granulaten und dadurch zu einer  
Zunahme der Partikelgröße. Um die gute Was-  
serlöslichkeit zu erhalten, kann es vorteilhaft sein,  
25 amorphe Granulatstrukturen mit den daraus folgenden  
großen spezifischen Oberflächen zu erzeugen. Geeigne-  
te Prozeßbedingungen (Variation des Sprühdruckes,  
Sprührate, Produkttemperatur und Zulufttemperatur,  
Feststoff-Konzentration der eingesetzten Sprühlö-  
30 sung), um diese Strukturen definiert und reproduzier-  
bar zu erzeugen, sind gemäß dem Stand der Technik von  
Wirbelschichtverfahren bekannt. Durch Zugabe gemäß  
dem Stand der Technik bekannter wasserlöslicher  
Bindemittel (z.B. Cellulose-Derivate) kann die  
35 Partikelgröße in der Größe und in der Korngrößen-

verteilung variiert werden (Schäfer, T.: Worts, O.: Control of fluidized bed granulation. V. Factors affecting granule growth. Arch. Pharm. Chemie. Sci. Ed. 6, 1978, 69-82).

5

Mit der exakten Einstellung einer bestimmten Partikelgröße können die Forderungen "Rieselfähigkeit" (und damit auch Dosierbarkeit), "Löslichkeit", "Staubfreiheit" und "Mischbarkeit" gut eingestellt und auch bewußt variiert werden. So ist es vorteilhaft, durch eine möglichst feine und kleine Partikelgröße eine großflächige, feindisperse Anwendung des Fibrin-Gewebeklebers zu ermöglichen. Gleichzeitig kann durch größere Partikel mit enger Partikelgrößenverteilung eine lokal stark begrenzte, gezielte Dosierung des Fibrin-Gewebeklebers möglich werden. Ein weiterer Freiheitsgrad für die Anwendung eines festen, rieselfähigen Fibrin-Gewebeklebers kann z.B. die Löslichkeit des Granulats darstellen. Damit kann z.B. eine maximal schnelle Löslichkeit oder eine verzögerte Löslichkeit und eine damit auch verzögert oder langsamer einsetzende Gerinnung eingestellt werden. Diese langsame oder verzögerte Gerinnung kann z.B. bei plastisch-ästhetischen Gesichtsoperationen zusätzliche Möglichkeiten zur zusätzlichen Manipulation oder Änderung operativer Eingriffe schaffen. Die Löslichkeit läßt sich sowohl über die Partikelgröße, die Partikelstruktur und über zusätzliche Substanzen, die die inneren Bindungskräfte erhöhen oder erniedrigen, beeinflussen.

Bei der Wahl der Prozeßbedingungen muß weiterhin primär darauf geachtet werden, daß die relevanten Proteine nicht geschädigt werden (z.B. durch hohe Temperaturen). Geeignete Zulufttemperaturen liegen

z.B. zwischen 15 und 100 °C; für die Produkttemperatur bevorzugt jedoch kleiner 50 oder 37 °C. Berücksichtigt werden muß dabei, daß eine mögliche Inaktivierung immer im Zusammenhang mit einer bestimmten Feuchte betrachtet werden muß, d.h. die Temperaturstabilität nimmt mit abnehmender Produktfeuchte im Feststoff zu, so daß gegen Ende der Trocknung auch höhere Temperaturen akzeptabel sein können.

5

Die Trocknung muß bis zu einer Restfeuchte erfolgen, die so klein ist, daß je nach den gewählten Lagerbedingungen keine Aktivitätsverluste beobachtet werden oder daß es bereits zu einem selbsttägigen Ablaufen der Gerinnung kommt. Geeignete Lagerbedingungen sind: Kühllagerung bei 4 bis 8 °C oder Raumbedingungen (20 °C). Das Granulat kann zusätzlich in einer schützenden Atmosphäre (z.B. Stickstoff oder Kohlendioxid) und z.B. unter Lichtausschluß eingeschlossen sein. Mögliche Restfeuchten können dann 10

15

20

z.B. zwischen 0,1 - 5 % Wassergehalt liegen.

Die Erfindung wird nachfolgend durch Beispiele und die Figuren 1 und 2 näher erläutert.

25 Fig. 1 zeigt schematisch das 2-Spritzenmodell, Fig. 2 zeigt eine Wirbelschichtanlage zur Durchführung des Verfahrens.

30 Allgemeine Vorschriften zur Herstellung des Granulats:

(1) Auf vorgelegtes Mannitol (mit Partikelgröße 50-100 µm) wird das Fibrinogen-Konzentrat (zusammen mit dem Faktor XIII) aus wäßriger Lösung aufge-

5 sprüht. Das Verhältnis Trägermaterial zu Proteinmenge kann z.B. in einem Bereich von 1:1 bis 100:1 variiert werden und liegt bevorzugt in einem Bereich von 1:1 bis 10:1. Getrocknet wird bis zur geeigneten Restfeuchte, die Produkttemperatur überschreitet während des Sprühens und des anschließenden Nachtrocknens die Temperatur von 35 °C nicht.

10 (2) Anschließend wird auf gleiche Weise auf ebenfalls vorgelegtes Mannitol (mit Partikelgröße 50 - 100  $\mu\text{m}$ ) das Thrombin-Konzentrat aus wäßriger Lösung mit einer definierten Menge Calcium-Chlorid aufgesprüht. Da Thrombin im Fibrin-Gewebekleber mengenmäßig den deutlich kleineren Anteil hat, liegt das Verhältnis Trägermaterial zu Proteinmenge für Thrombin z.B. in einem Bereich von 50:1 bis 1000:1 und bevorzugt im Bereich 50:1 bis 200:1. Im Anschluß an das Sprühen wird ebenfalls bis zu einer geeigneten Restfeuchte unter Einhaltung einer maximalen Produkttemperatur von 35 °C getrocknet. Beide erhaltenen Granulate werden anschließend vermischt und können dann direkt als Mischung auf die Wunde aufgetragen werden. Das Mischungsverhältnis orientiert sich an dem, gemäß dem Stand der Technik vorgegebenen, Verhältnis von Fibrinogen zu Thrombin, wie dieses auch bei den bisher bekannten flüssigen Darreichungsformen eingestellt wird. Darüber hinaus sind jedoch auch andere Mischungsverhältnisse Fibrinogen-Granulat zu Thrombin-Granulat gut und leicht einstellbar (anders als bei Lösungen, wo sich die Volumenverhältnisse an der Löslichkeit orientieren müs-

15

20

25

30

sen). Somit kann durch definierte, homogene Mischungen die Wirkung des Fibrin-Gewebeklebers hinsichtlich Einsetzen der Gerinnung, Beginn einer irreparablen Verfestigung oder auch Festigkeit des vollständig geronnenen Klebers einfach und gezielt beeinflußt werden.

Alternativ dazu kann auch gemäß folgendem Prozeßablauf ein Fibrin-Gewebekleber hergestellt werden:

10 (3) Durchführung der Trocknung von Fibrinogen wie unter (1) beschrieben (auf Trägermaterial).

15 (4) Auf das getrocknete Granulat wird Thrombin aus einer organischen Suspension (geeignet ist z.B. Isopropanol) zusammen mit Calcium-Chlorid aufgesprüht. Thrombin (und auch Fibrinogen) ist in Isopropanol stabil, wird chemisch dadurch nicht verändert, löst sich jedoch nicht in Isopropanol. Thrombin lagert sich somit auf das mit Fibrinogen beladene Granulat an. Durch die Abwesenheit von Wasser kommt es nicht zu einer vorzeitigen Gerinnung z.B. bereits auf dem Granulat während der Sprühgranulation. Das Mischgranulat, bestehend aus Träger, Fibrinogen-Faktor XIII und Thrombin, kann direkt auf der Wunde angewandt werden. Anteile Fibrinogen zu Thrombin entsprechen wieder dem aus dem Stand der Technik bekannten Verhältnis. Die Löslichkeit, und damit verbunden auch die Gerinnung, wird bei diesem Mischgranulat, insbesondere auch durch die Abwesenheit einer erheblichen Trägermaterialmenge, die sich bei der Anwendung nicht erst lösen muß, erhöht.

(5) Um ein direktes Aufsprühen von Thrombin-haltiger, wäßriger Lösung (+ CaCl<sub>2</sub>) auf vorgelegtes Fibrinogen-Granulat (hergestellt gemäß (1)) zu ermöglichen, kann als innere Barriere auf das Fibrinogen-Granulat z.B. eine gut wasserlösliche Sperrsicht als räumliche Trennung von Fibrinogen und Thrombin aufgebracht werden. Für diese Sperrsicht gilt, daß zum einen beide Wirkstoffe dadurch chemisch nicht verändert werden dürfen, daß die Sperrsicht gut wasserlöslich ist und daß sie eine wirksame Trennung von Fibrinogen und Thrombin während des Sprühens und Granulierens und auch in der endgültigen, lagerstabilen, festen, getrockneten Form darstellt. Dafür geeignet sind z.B. niedermolekulare, Polyvinylpyrrolidon- oder auch Cellulose-Derivat-Lösungen oder auch Kohlehydrate (z.B. Dextrose-Derivate). Für das so hergestellte Produkt ist die gleiche Charakteristik bezüglich Löslichkeit und Gerinnung zu erwarten wie für das gemäß (4) produzierte Granulat.

Daneben sind auch Prozeßvarianten ohne ein zusätzlich vorgelegtes Trägermaterial möglich:

(6) Durch Einsprühen aus wäßriger Fibrinogen-Lösung oder aus isopropanolischer (bzw. organischer) Suspension in eine leere Anlage werden in-situ Granulatkeime bzw. fein verteilte Partikel erzeugt, die als Starterkerne für eine weitere Granulation dienen können. Die dafür zu verwendende Anlage kann z.B. ein Sprühturm oder auch eine Wirbelschichtanlage mit ausreichend freier Flugstrecke für die versprühten Flüssigkeitströpfchen sein. Bei Einhaltung geeigneter Pro-

zeßbedingungen können die versprühten Flüssigkeitströpfchen entsprechend den Verhältnissen eines Sprühtröckners (jedoch mit reduzierten Trocknungstemperaturen) in einer Wirbelschichtanlage getrocknet werden, bevor sie z.B. im noch feuchten Zustand die Behälterwand berühren und dort kleben bleiben. Diese so erzeugten feinen Partikel werden durch das Fluidisationsgas in Bewegung und in der Schwebe gehalten und kommen so mit dem Sprühnebel der weiterhin eingesprühten Flüssigkeit in Kontakt und beginnen dann zu granulieren. Auf diese Weise kann, insbesondere durch sehr vorsichtige Fahrweise des Prozesses während des Anfahrens des Prozesses, in der ursprünglich leeren Anlage ein definiertes Granulatwachstum generiert werden. Dies kann z.B. durch Zugabe bekannter Bindemittel unterstützt werden. Durch Kombination mit einem klassierenden Granulataustrag (z.B. über einen Zick-Zack-Sichter und klassierendem Luftstrom) besteht die Möglichkeit, Granulat mit einer definierten Partikelgröße in der Anlage zu erzeugen und den Prozeß sogar in einer kontinuierlichen oder quasi-kontinuierlichen Fahrweise zu betreiben.

(7) Auf das gemäß (6) erzeugte Fibrinogen-Konzentrat-Granulat kann direkt wie unter (4) oder (5) beschrieben, Thrombin mit oder ohne eine zusätzliche Sperr- (bzw. Coating-) schicht aufgebracht werden.

Gemäß dem Stand der Technik können bzw. müssen die Herstellungsvarianten (1) - (7) für den Fibrin-Gewebekleber mit geeigneten Verfahren zum Inaktivieren von Viren kombiniert werden. Dies kann entweder so erfol-

gen, daß die Proteinkonzentrate vor der Trocknung mit bekannten Inaktivierungs-Verfahren (z.B. Pasteurisieren oder Solvent/Detergent-Verfahren) behandelt werden, oder daß das getrocknete Granulat, wie aus 5 DE 44 41 167 bekannt, direkt in der Wirbelschicht gegen Ende oder nach der eigentlichen Sprühgranulation oder Trocknung derartig wärmebehandelt wird, daß die Viren entsprechend inaktiviert werden. Dieser Behandlungsschritt muß jedoch so durchgeführt werden, 10 daß die funktionellen Eigenschaften der Proteine erhalten bleiben.

Fig. 1 zeigt die schematische Darstellung der erforderlichen Vorbereitung der verschiedenen Komponenten eines Fibrin-Gewebeklebers vor der Anwendung und Möglichkeiten zur Verabreichung nach dem Stand der 15 Technik.

- 1 Fibrinogen-Faktor XIII-Konzentrat
- 2 Lösung (z.B. physiologische Kochsalzlösung)
- 3 Thrombin-Konzentrat
- 4 Calcium-Chlorid-Lösung

Die Komponenten 1-4 sind sterilverpackt. In der Regel 25 werden die Lösungen aus den Komponenten 2 und 4 mittels Vakuum in die Flaschen 1 und 3 gebracht. Nachdem sich in den Behältnissen 1 und 3 eine vollständige Lösung (ohne Trübung) gebildet hat, können die Lösung in Sterilspritzen (5) und (6) aufgezogen werden und an bzw. in einer Wunde zur Verabreichung kommen. Die 30 eingesetzten Mengen liegen typischerweise im ml-Bereich.

Fig. 2 zeigt eine mögliche Ausführungsform einer Wirbelschichtanlage zur Herstellung des Granulates. 35

- 1 Wirbelschichtanlage
- 2 Unterteil
- 3 Anpreßvorrichtung (z.B. Hydraulikzylinder)
- 5 4 Zuluftkanal
- 5 Materialbehälter
- 6 Anströmboden (Gasverteiler)
- 7 Filtergehäuse (Entspannungszone)
- 8 Abluftkanal
- 10 9 Sprühkanal mit Sprühdüse (Top-Spray und Bottom-Spray-Position)
- 10 Produktrückhaltefilter
- 11 Sprühpumpe

15 Mittels eines Fluidisationsgases wird Produkt, Pulver oder Granulat in einer Wirbelschichtanlage 1 verwirbelt. Das Fluidisationsgas wird dabei durch die Wirbelschichtanlage 1 von unten nach oben z.B. mittels eines nicht dargestellten Ventilators durchgeführt.

20 Die Aufgabe des Fluidisationsgases ist somit die Verwirbelung des zu behandelnden Gutes, die konvektive Wärmezufuhr an das Produkt bzw. an einen Sprühnebel und der Abtransport der verdunsteten Flüssigkeitsmenge während der Trocknung. Der Einlaß des Fluidisationsgases erfolgt über den im Unterteil 2 angebrachten Zuluftkanal 4. Die gleichmäßige Gasverteilung über dem Querschnitt des Reaktionsraumes erfolgt über einen Anströmboden 6, der gleichzeitig den Materialbehälter 5 vom Unterteil 2 trennt. Im Filtergehäuse 7 sind im oberen Bereich technische Hilfsmittel (z.B. Produktrückhaltefilter) zur Rückhaltung von feinkörnigem Produkt angebracht, die sicherstellen, daß kein Produktaustrag in den ebenfalls im oberen Bereich der Wirbelschichtanlage angebrachten Abluftkanal 8 erfolgen kann. Flüssiges Produkt (Lösung oder

Suspension) kann über einen Sprühkanal mit Sprühdüse 9 und mittels einer Sprühpumpe 11 aus einer nicht dargestellten Vorlage in die Wirbelschichtanlage 1 entweder von oben (Top-Spray-Position, mit durchgezogener Linie dargestellt) oder von unten (Bottom-Spray-Position, gestrichelt dargestellt) eingesprührt werden. Der dadurch entstehende Sprühkegel trifft entweder auf bereits im Materialbehälter 5 vorgelegtes Produkt und trocknet dort auf der daraus resultierenden Partikelloberfläche oder wird analog zu Sprühtrocknungsbedingungen im Reaktionsraum direkt getrocknet und bildet so Pulver bzw. feinverteiltes Granulat. Durch eine Messung der Produkttemperatur während des Wirbelschichtprozesses und einer darauf basierenden Prozeßsteuerung kann eine produktschonende Trocknung eingehalten werden. Die Temperatur des Fluidisationsgases ist dabei selbstverständlich nach dem zu behandelnden Gut ausgewählt und kann z.B. in einem Bereich von 15 bis 100 °C liegen. Die resultierende Produkttemperatur ist niedriger und kann bevorzugt kleiner 50 °C oder besser kleiner 37 °C während der Trocknung bzw. Sprühgranulation gehalten werden.

## Patentansprüche

1. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung enthaltend  
5 Thrombin, Fibrinogen und Faktor XIII  
  
dadurch gekennzeichnet,  
  
10 daß das Thrombin und Fibrinogen mit Faktor XIII  
als Gemisch in rieselfähiger fester Granulatform  
vorliegt, wobei das Granulat eine Partikelgröße  
von 20-1000  $\mu\text{m}$  aufweist.
2. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch  
15 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch  
Trocknung der Proteinlösungen oder Suspensionen  
in einer Wirbelschichtapparatur erhalten worden  
ist.
- 20 3. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch 1  
oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Gemisch  
aus separat getrockneten Thrombin- und Fibrino-  
gengranulaten besteht.
- 25 4. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach einem der  
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß  
die Thrombin- und/oder Fibrinogengranulate einen  
Kern als Träger aufweisen.
- 30 5. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch  
4, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger ausge-  
wählt ist aus wasserlöslichen Zuckern und/oder  
Zuckeraustauschstoffen und/oder biologischen  
Transportsubstanzen.

6. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gemisch ein Mischgranulat ist, bei dem Thrombin die äußere Schicht und das Fibrinogen den inneren Kern bildet.
7. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Mischgranulat aus einem Kern als Träger einer darauf angeordneten Fibrinogenschicht und einer äußeren Schicht aus Thrombin besteht.
8. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen der Fibrinogen- und der äußeren Thrombinschicht eine Sperrsicht vorhanden ist.
9. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Sperrsicht aus niedermolekularem Polyvinylpyrrolidon oder Cellulosederivatlösungen oder Kohlehydratlösungen durch Trocknung dieser Lösungen hergestellt worden ist.
10. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis von Thrombin zu Fibrinogen mit Faktor XIII im Bereich von 1:10 bis 1:1000, bevorzugt von 1:50 bis 1:200 liegt.
11. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Korndurchmesser des Granulats im Bereich von 30-500  $\mu\text{m}$ , bevorzugt 40-200  $\mu\text{m}$  liegt.

12. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindesten einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Thrombingranulate und/oder Fibrinogengranulate und/oder Mischgranulate mit einer äußeren Sperrsicht versehen sind.  
5
13. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Thrombin- und Fibrinogenproteine durch gentechnologische oder biotechnologische Verfahren rekombinant hergestellt worden sind.  
10
14. Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Calciumsalz enthält.  
15
15. Verfahren zur Herstellung einer Fibrin-Gewebekleber-Formulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinlösungen oder Suspensionen von Fibrinogen mit Faktor XIII Thrombin in eine Wirbelschichtkammer eingesprührt und mittels eines Fluidationsgases getrocknet werden, wobei die maximale Produkttemperatur 50 °C nicht überschreitet.  
20
16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß in einem ersten Schritt ein Fibrinogenkonzentrat mit Faktor XIII aus wäßriger Lösung in die Wirbelschichtkammer eingesprührt und getrocknet sowie isoliert wird und daß dann in einem zweiten Schritt das Thrombinkonzentrat aus wäßriger Lösung in die Wirbelschichtkammer eingesprührt, getrocknet und isoliert wird und daß  
25
- 30
- 35

dann anschließend beide erhaltenen Granulate vermischt werden.

17. Verfahren zur Herstellung einer Fibrin-Gewebe-  
5 kleber-Formulierung nach Patentanspruch 15, da-  
durch gekennzeichnet, daß in einem ersten  
Schritt ein Fibrinogenkonzentrat aus wäßriger  
Lösung in die Wirbelschichtkammer eingesprührt  
und getrocknet wird und daß dann auf dieses ge-  
10 trocknete Granulat Thrombin aus einer organi-  
schen Suspension aufgesprührt wird.

18. Verfahren zur Herstellung einer Fibrin-Gewebe-  
15 kleber-Formulierung nach mindestens einem der  
Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß  
die Proteinlösungen auf ein vorgelegtes Träger-  
material aufgesprührt werden.

20

25

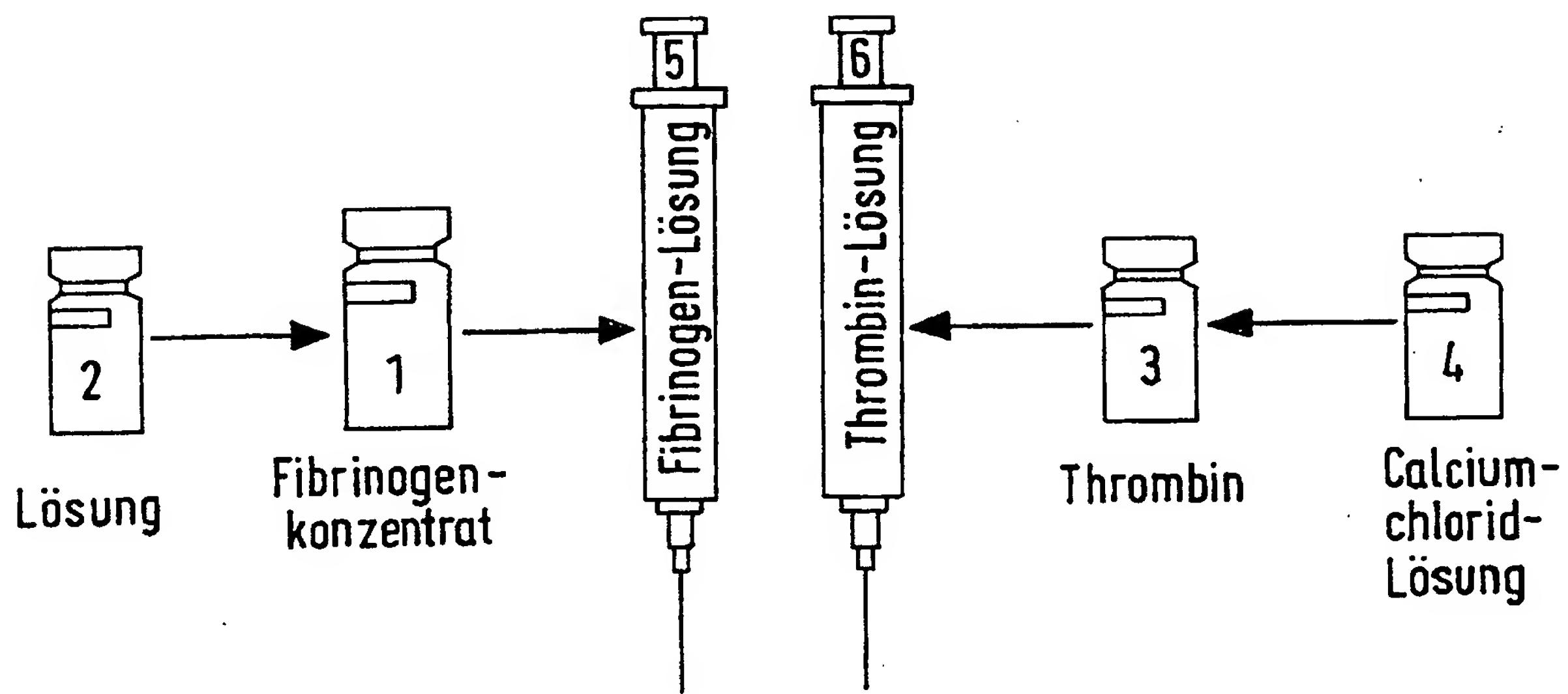
30

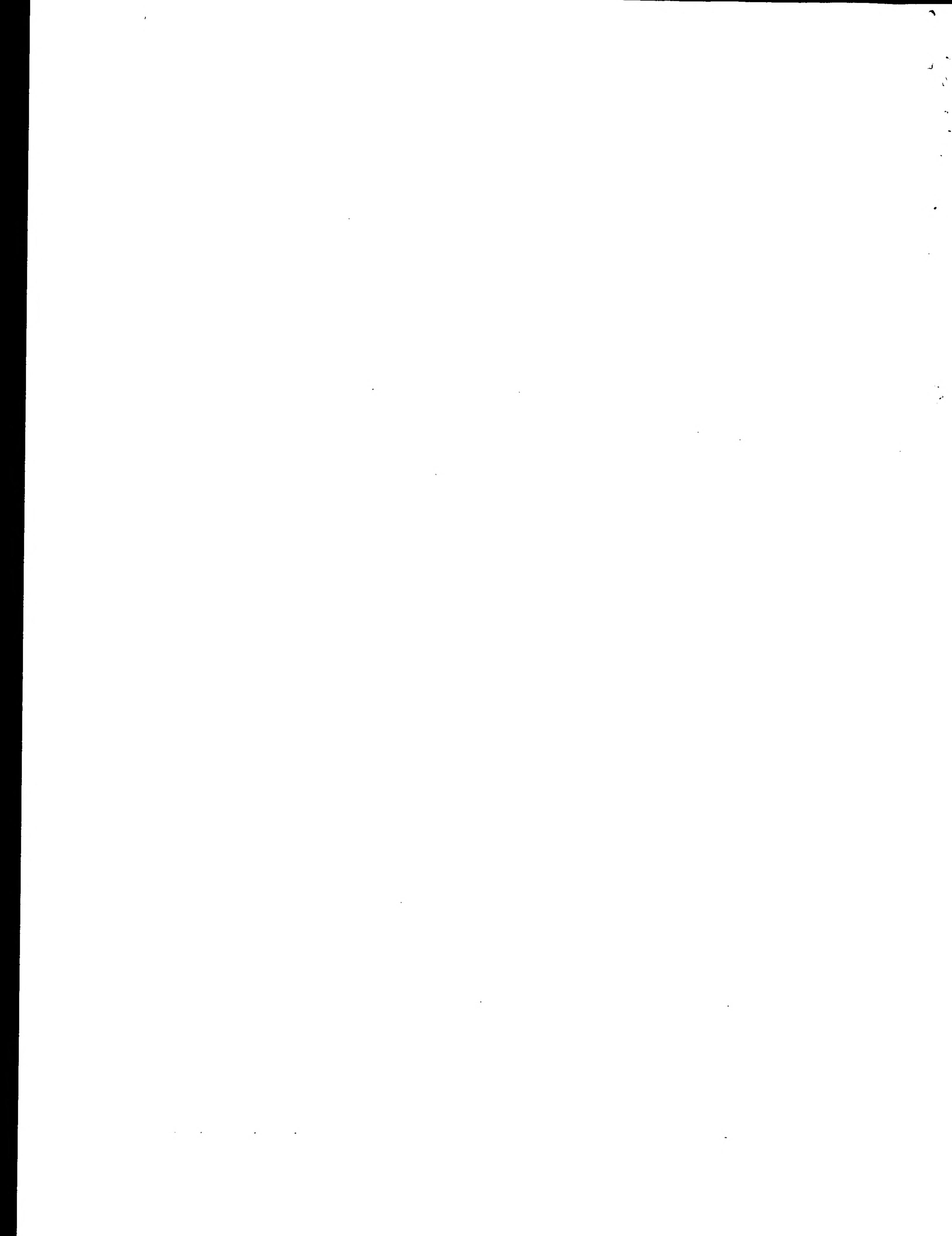
35



1/2

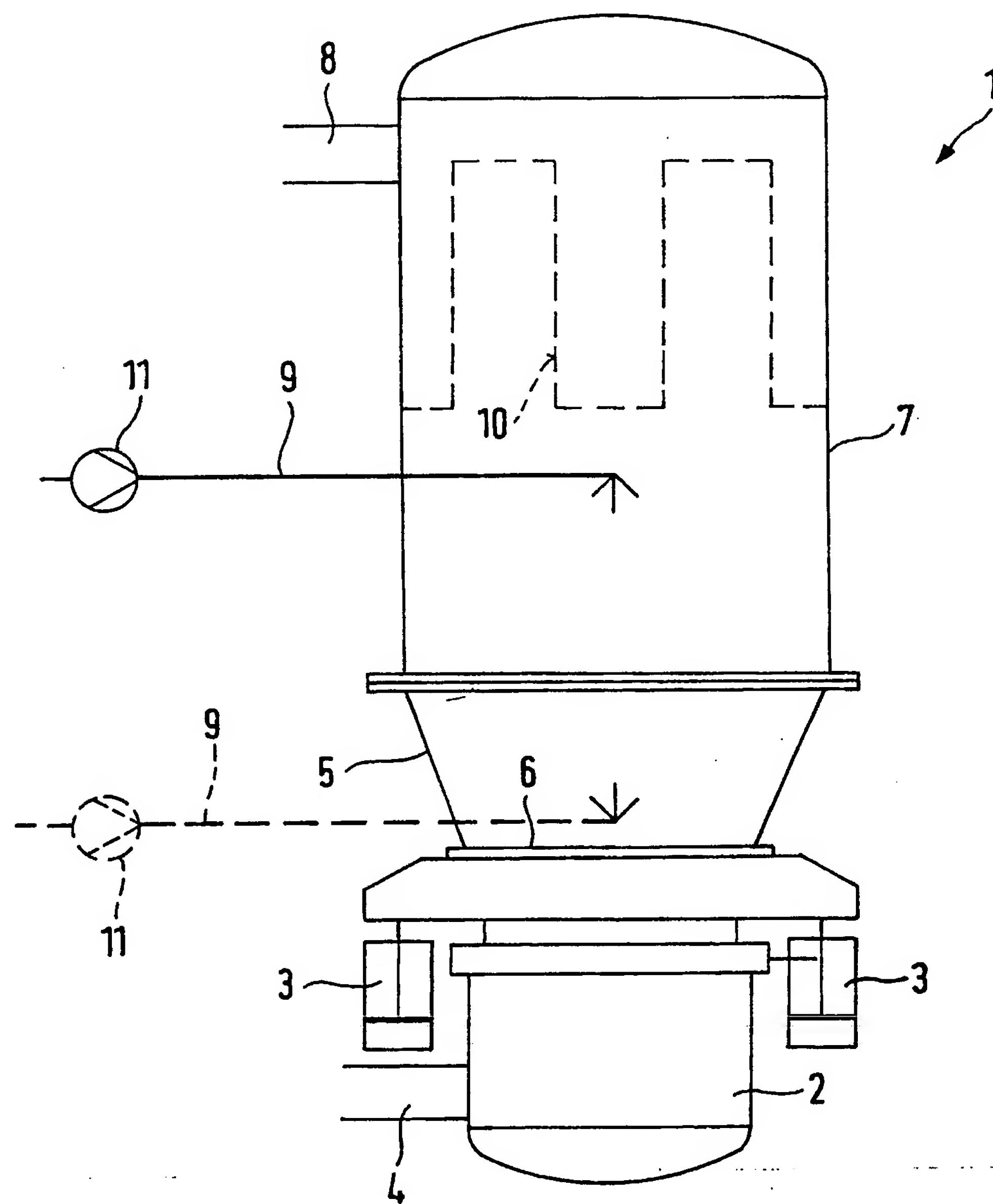
FIG.1

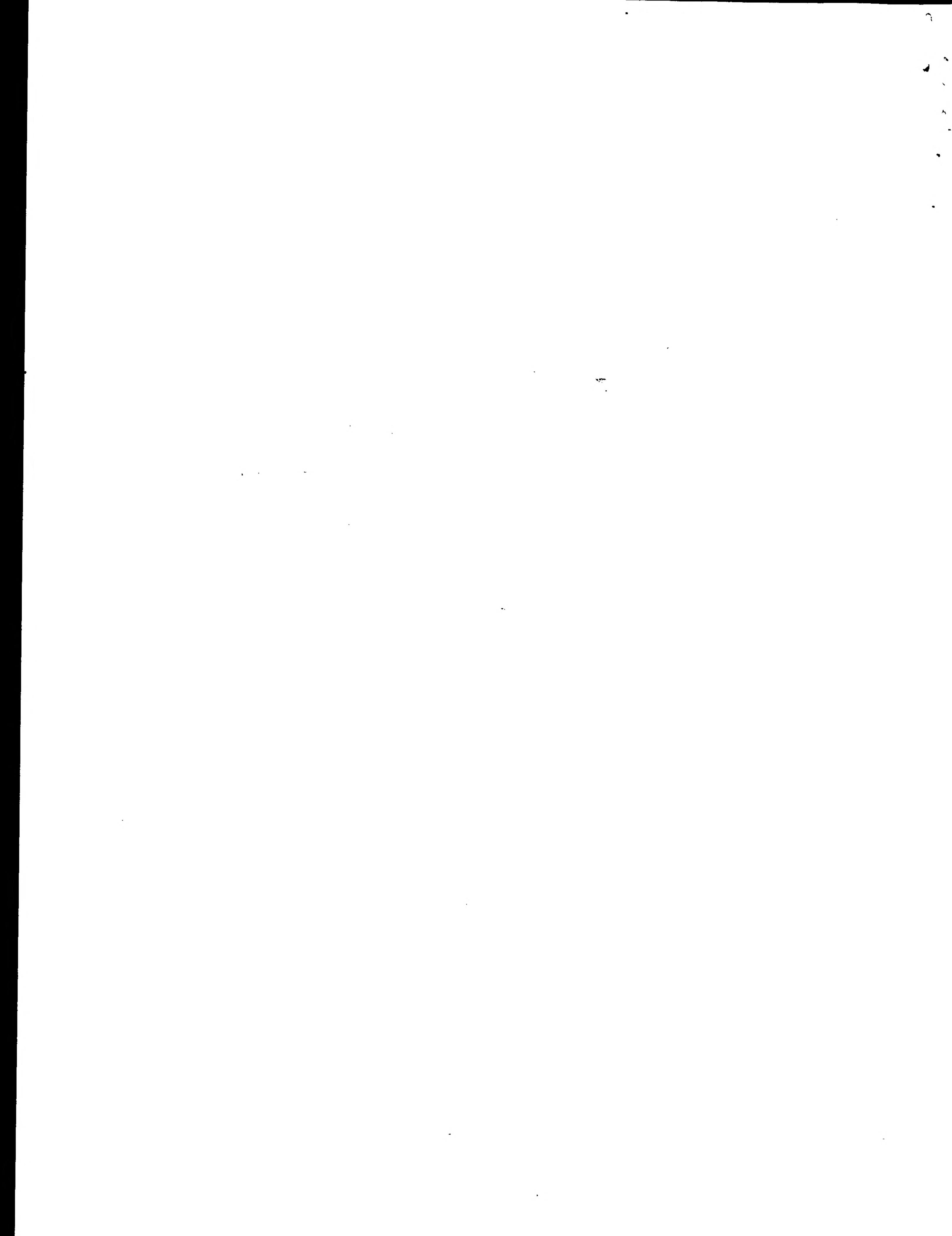




2 / 2

FIG. 2





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. onal Application No  
PCT/EP 99/08128

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61L24/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61L A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category <sup>a</sup> | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No.                |
|-----------------------|--|--------------------------------------|
| X                     | WO 97 44015 A (ANDARIS LTD)<br>27 November 1997 (1997-11-27)<br>cited in the application<br>claims<br>---  | 1, 3-5,<br>10, 11,<br>15-18<br>1, 13 |
| Y                     | D. PRUNKARD: "Heterologous Production of recombinant human fibrinogen, thrombin, and factor XIII as components of completely recombinant fibrin sealants"<br>THROMBOSIS & HAEMOSTASIS,<br>vol. supp, no. 9,<br>6 September 1997 (1997-09-06), page 372<br>XP002112932<br>the whole document<br>--- | 1, 13                                |
|                       |  | -/-                                  |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

### <sup>a</sup> Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the International search report

19 January 2000

25/01/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: +31 70 340 2240, Tx: 21 651 epo nl

Authorized officer

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 99/08128

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| P, X     | WO 99 15637 A (HADASIT MEDICAL RESEARCH & DEV ; V I TECHNOLOGIES INC (US))<br>1 April 1999 (1999-04-01)<br>page 2, line 1-4<br>page 10, line 17 -page 11, line 9<br>page 13, line 3-6<br>--- | 1, 3, 10,<br>11       |
| A        | WO 96 29990 A (UNIV CINCINNATI)<br>3 October 1996 (1996-10-03)<br>claims 1-7<br>page 4, line 19-31<br>-----  | 1-14                  |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

Intel.ional Application No  
PCT/EP 99/08128

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) |           | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|-----------|------------------|
| WO 9744015 A                           | 27-11-1997       | AU                      | 702955 B  | 11-03-1999       |
|  |                  | AU                      | 2783797 A | 09-12-1997       |
|  |                  | EP                      | 0914096 A | 12-05-1999       |
|  |                  | NO                      | 985340 A  | 18-01-1999       |
| WO 9915637 A                           | 01-04-1999       | AU                      | 9481598 A | 12-04-1999       |
| WO 9629990 A                           | 03-10-1996       | US                      | 5658588 A | 19-08-1997       |
|  |                  | AU                      | 5436196 A | 16-10-1996       |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08128

## A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61L24/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61L A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr.                |
|------------|---|-----------------------------------|
| X          | WO 97 44015 A (ANDARIS LTD)<br>27. November 1997 (1997-11-27)<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Ansprüche<br>---   | 1,3-5,<br>10,11,<br>15-18<br>1,13 |
| Y          | D.PRUNKARD: "Heterologous Production of recombinant human fibrinogen, thrombin, and favctor XIII as components of completely recombinant fibrin sealants"<br>THROMBOSIS & HAEMOSTASIS,<br>Bd. supp, Nr. 9,<br>6. September 1997 (1997-09-06), Seite 372<br>XP002112932<br>das ganze Dokument<br>--- | 1,13                              |
|            |   | -/-                               |



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

19. Januar 2000

25/01/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2

NL - 2280 HV Rijswijk

Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,

Bevollmächtigter Bediensteter

MUÑOZ M

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 99/08128

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|-----------|---|--------------------|
| P, X      | WO 99 15637 A (HADASIT MEDICAL RESEARCH & DEV ; V I TECHNOLOGIES INC (US))<br>1. April 1999 (1999-04-01)<br>Seite 2, Zeile 1-4<br>Seite 10, Zeile 17 -Seite 11, Zeile 9<br>Seite 13, Zeile 3-6<br>--- | 1, 3, 10,<br>11    |
| A         | WO 96 29990 A (UNIV CINCINNATI)<br>3. Oktober 1996 (1996-10-03)<br>Ansprüche 1-7<br>Seite 4, Zeile 19-31<br>-----   | 1-14               |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Int. nationales Aktenzeichen  
PCT/EP 99/08128

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie |           | Datum der Veröffentlichung |
|---|----------------------------|--------------------------------|-----------|----------------------------|
| WO 9744015 A                                    | 27-11-1997                 | AU                             | 702955 B  | 11-03-1999                 |
|   |                            | AU                             | 2783797 A | 09-12-1997                 |
|   |                            | EP                             | 0914096 A | 12-05-1999                 |
|   |                            | NO                             | 985340 A  | 18-01-1999                 |
| WO 9915637 A                                    | 01-04-1999                 | AU                             | 9481598 A | 12-04-1999                 |
| WO 9629990 A                                    | 03-10-1996                 | US                             | 5658588 A | 19-08-1997                 |
|   |                            | AU                             | 5436196 A | 16-10-1996                 |

TRANSLATION  
OF THE RELEVANT TEXT PASSAGES  
FROM CITATION D7  
(PRINTED PCT PUBLICATION WO 00/24436)

---

.....

It, therefore, is a purpose of the present Invention to indicate a fibrin tissue adhesive formulation which, as to its handling, dosing, and application, is simple and which can readily be stored over quite some time so that the possibilities of use of such a fibrin tissue adhesive formulation, in comparison with the State-Of-The-Art, will be considerably broadened.

It is another purpose of the Invention to indicate a corresponding process for preparing such a fibrin tissue adhesive formulation.

These purposes are, as far as the Formulation is concerned, attained by the characterising Features of Claim 1 and, as far as the Process is concerned, by the characterising Features of Patent Claim 15.

The Subclaims illustrate advantageous further developments.

According to the Invention, it, thus, is suggested that the fibrin tissue adhesive formulation be present, in solid, flowable form, as a mixture of the various protein concentrates, the size of the granules being within the range of 20 and 1,000 µm and, hence, enabling easy handling and application. In this connexion, it is essential to the Invention that the granular material obtained in the Formulation be prepared by drying the protein solution in a fluid bed since it was surprisingly found out that, by means of those processes, drying of the protein solutions resp suspensions is possible in so gentle a manner that their functional qualities will not



change. Another advantage resides in that the granular material is present in flowable form so that exact dosing will be possible.

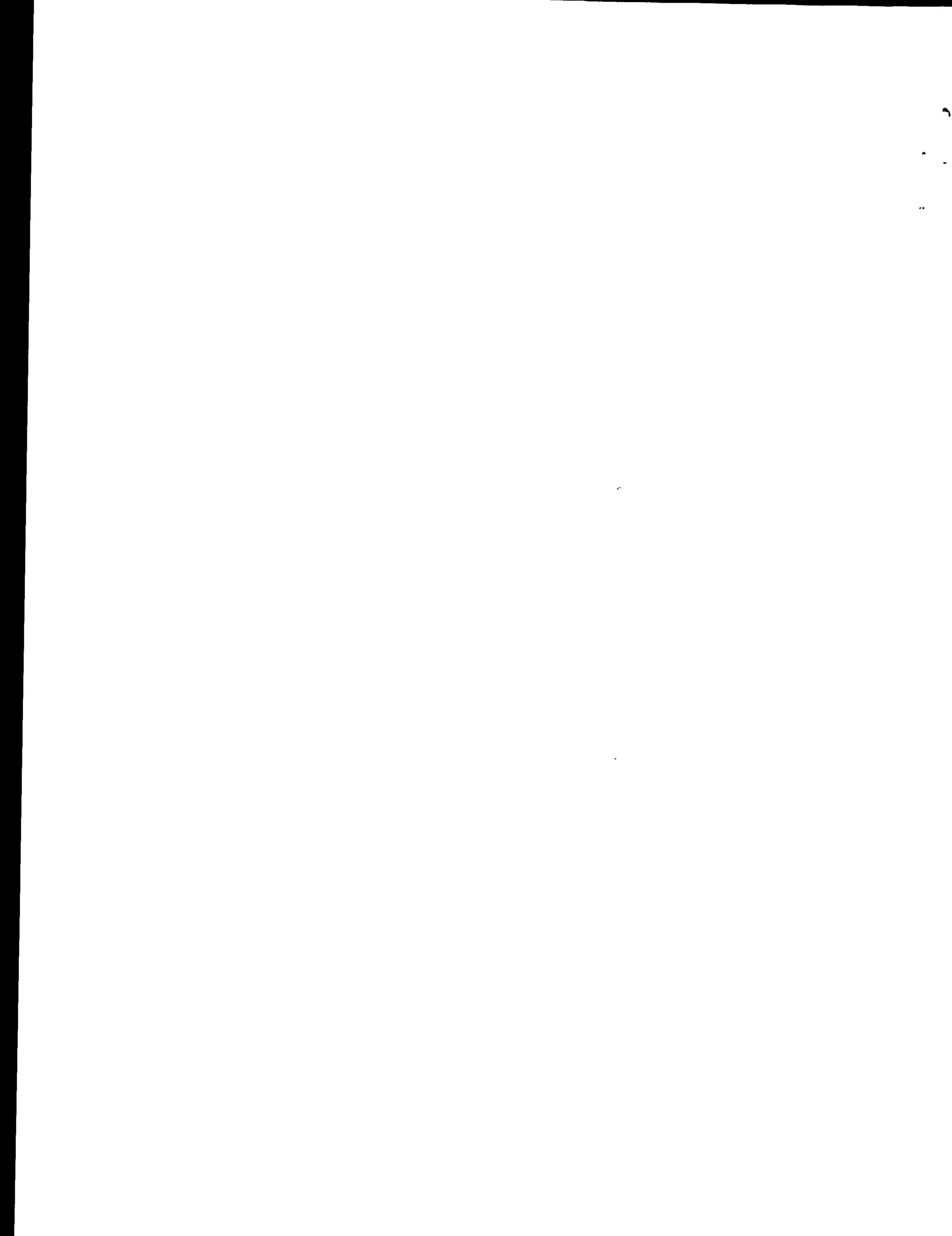
.....

Preferably and additionally, the fibrin tissue adhesive formulation according to the Invention contains a calcium salt, e. g.  $\text{CaCl}_2$ , and may, therewith, be structured such that either the individual protein solutions resp suspensions, i. e. the Fibrinogen-Factor-XIII Solution resp Suspension and the Thrombin/ $\text{CaCl}_2$  Solution resp Suspension, will be separately dried and, then, the dried granular materials will be mixed or, during drying of the protein solution, the fibrinogen will first be dried and, then, the thrombin will be applied to the granular material thus prepared. It is even possible to realise a structure with which the thrombin constitutes the core.

When dealing with the fibrin tissue adhesive formulation according to the Invention, it, furthermore, has to be emphasised that that formulation may be set in accordance with the respective application case. In that tissue adhesive formulation, the mixing ratio of fibrinogen to thrombin may, on the one hand, e. g. be selected in pinpointed manner as well as in accordance with the respective application case and, on the other hand, even particle size control is possible.

In case of the fibrin tissue adhesive formulation, with which, in each individual case, separate granular materials of the respective proteins are, at first, prepared and, then, intermixed, it is also possible that the granular material is made up of a core, a carrier material, and a protein layer applied thereto. The carrier material may be made e. g. from water-soluble sugars and/or sugar substitutes and/or biological transport substances. As examples thereof, mannitol or serum albumin are cited in this place.

The Formulation is, preferably, prepared such that the particle size of the granular material will be within a range of from 30 to 500  $\mu\text{m}$ , preferably from 40 to 200  $\mu\text{m}$ .

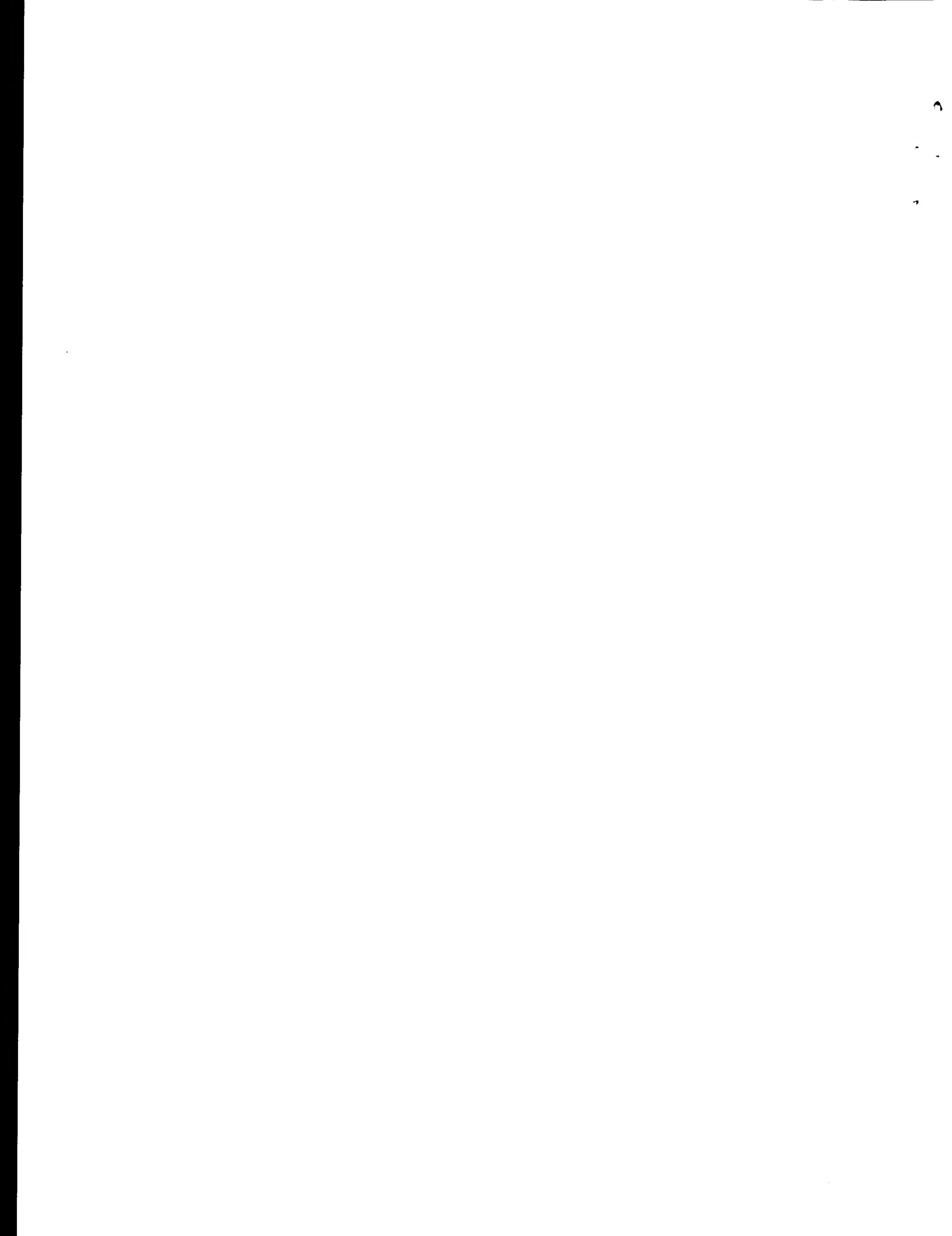


Fibrin tissue adhesive formulations with a core, i. e. with a carrier material, are also preferred with mixed granular material. In this case, the granular material, then, comprises a core, e. g. again of mannitol, to which a fibrinogen layer will then be applied, over which layer the thrombin layer will subsequently be placed. Accordingly, these mixed granular materials are of a three-layered structure. It goes without saying that, in accordance with the present Invention, it is also possible that these mixed granular materials are prepared without a core. In case of the Embodiment with said mixed granular materials, preference, furthermore, is given to a location of a barrier layer between the fibrinogen layer and the thrombin layer. This barrier layer must, on the one hand, separate the fibrinogen layer from the thrombin layer and must, on the other hand, also be well water-soluble. Materials for such a barrier layer, therefore, must meet the two criteria mentioned above. As examples thereof, low-molecular polyvinylpyrrolidones or also cellulose derivatives or also carbohydrates, e. g. dextrose derivatives, are cited in this place.

The Invention, moreover, relates to a process for preparing the fibrin tissue adhesive formulation described above.

According to the Invention, it is suggested to gently dry the proteins typically present in the fibrin tissue adhesive and being fibrinogen, thrombin, Factor XIII, as well as calcium salt in a fluid-bed apparatus so that flowable, granular, solid matter will result thereby. A contrivance suitable for this purpose is described in German Printed Publication 44 41 167. That is why reference is made to the disclosure content thereof.

The Process is, preferably, carried out such that the fluidisation gas will be conducted through the fluid-bed chamber from the bottom to the top and the liquid (solution or suspension) to be dried will be sprayed in from the top (top spray), from the bottom (bottom spray) or even laterally (rotary fluid bed) via a spraying system. At the same time, it is the purpose of the fluidisation gas to swirl a product present in the swirl chamber, to supply the heat required for evaporation of the spray liquid (water or



organic solvent) to the spray jet or to the wet product and to simultaneously absorb the evaporated amount of liquid and remove it. Discharging of the dried product is, on the one hand, prevented by choosing an appropriate fluidisation speed (lower than the arithmetically and experimentally detectable, so-called discharge speed for the product) and, on the other hand, also by a product retaining filter present in the upper region of the swirl chamber and regularly dedustable or also by another product separator known from the State-Of-The-Art (such as e. g. a cyclone separator).

It may, therewith, be proceeded e. g. in such a way that the carrier material is presented in the swirl chamber, onto which carrier material the solution/suspension e. g. of aqueous protein solution resp suspension will then be sprayed. The liquid droplets finely atomised in the atomising cone will, therewith, encounter the whirled up, pulverised carrier material and dry there due to the thermal and mass-transfer ratios ideal to fluid-bed processes, which ratios, in essence, are a consequence of the quite large specific particle surfaces of the swirled product. The proteins present in the spray liquid will then settle down on the carrier as solid matter owing to adsorptive forces. The carrier is, ideally, of such nature that, on the one hand, it will be inert to the proteins (i. e. no interaction may occur with the protein structures; a thing which would permanently change the functional qualities) and that, at the same time, solubility of the proteins in water, wound liquor or physiological common salt solution will be restricted or impeded. That is why e. g. well water-soluble sugars (e. g. mannitol) or also other substances known, according to the State-Of-The-Art, as being well water-soluble carrier materials come into question. Due to the very specific qualities of the proteins, such substances must, however, be individually rated regarding their suitability. Also suited as carriers are substances which already act as transport systems in the biological system and which, at the same time, can be made use of since they, apart from the desired proteins of the fibrin tissue adhesive, are present in the natural biological systems. As an example thereof, serum albumin of human origin or in recombinant form can be cited in this place.

.....



General prescriptions for preparing the granular material:

- (1) The fibrinogen concentrate (together with Factor XIII) of an aqueous solution is sprayed onto presented mannitol (of a particle size of from 50 to 100  $\mu\text{m}$ ). The ratio of carrier material to protein amount may be varied e. g. within a range of from 1 : 1 to 100 : 1 and, preferably, is within a range of from 1 : 1 to 10 : 1. Drying is effected up to a suitable residual wetness; during spraying and subsequent after-drying, the product temperature will not exceed a temperature of 35°C.
- (2) In the same way, the thrombin concentrate of an aqueous solution will then be sprayed onto likewise presented mannitol (of a particle size of from 50 to 100  $\mu\text{m}$ ) with a defined amount of calcium chloride. Since the amount of thrombin in the fibrin tissue adhesive is considerably smaller, the ratio of carrier material to protein amount for thrombin is e. g. within a range of from 50 : 1 to 1,000 : 1 and, preferably, within a range of from 50 : 1 to 200 : 1. Further to spraying, drying will be effected, and that likewise up to a suitable residual wetness while observing a maximal product temperature of 35°C. Thereafter, both obtained granular materials will be intermixed and, then, may be directly applied to the wound as a mixture. The mixing ratio follows the ratio of fibrinogen to thrombin, such as given by the State-Of-The-Art and set also in case of the hitherto known liquid forms of administration. In addition to all that, other mixing ratios of granular fibrinogen material to granular thrombin material can, however, be well and easily set (unlike with solutions where the volume ratios must follow solubility). Thus, the effect of a fibrin tissue adhesive can, with regard to making use of coagulation, beginning of an irreparable hardening or even strength of the fully coagulated adhesive, be effected in simple and pinpointed manner.

As an alternative thereto, a fibrin tissue adhesive may also be prepared in accordance with the following process course:

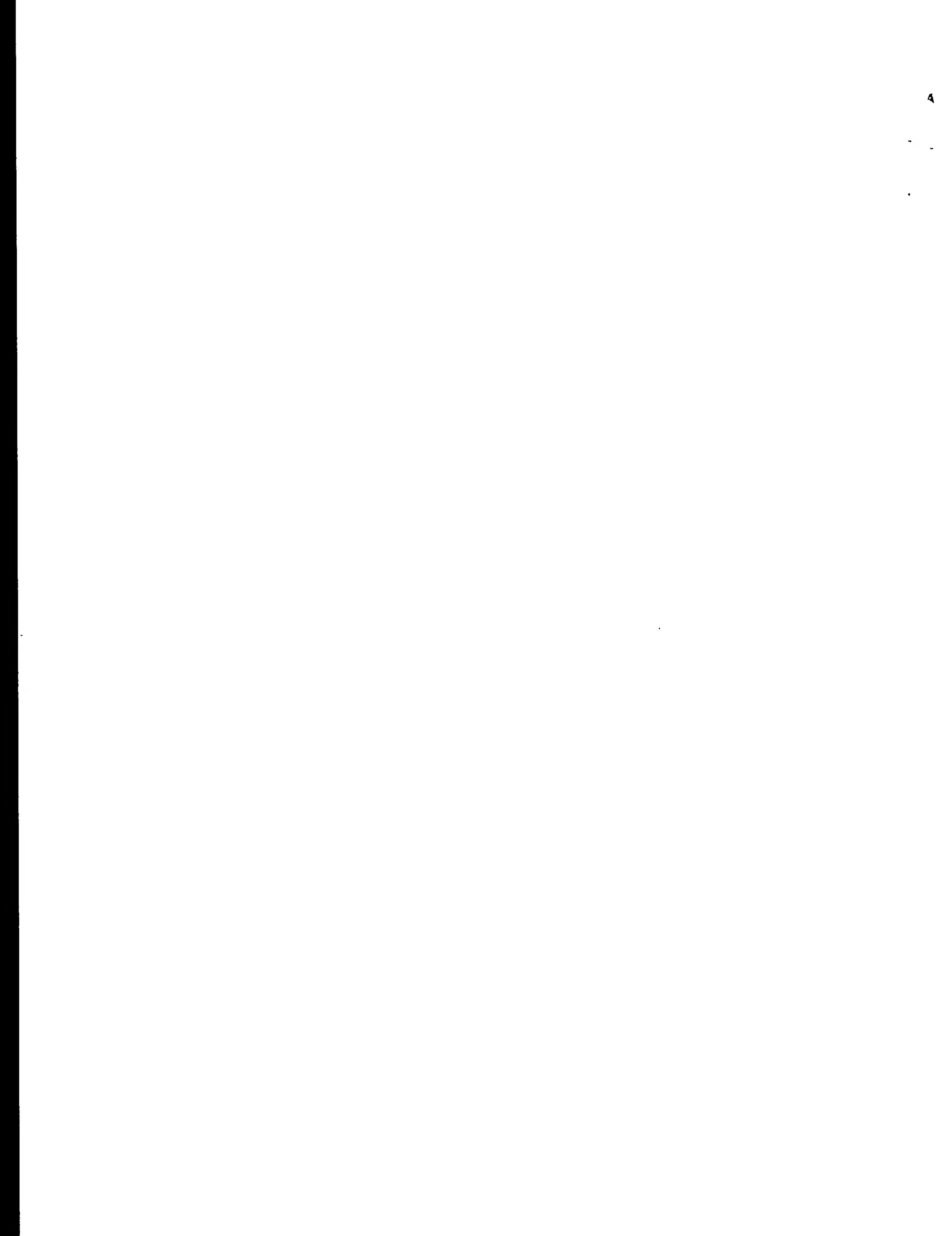


(3) Performing drying of fibrinogen (on carrier material), as described under (1)

(4) Thrombin of an organic suspension (e. g. isopropanol is a suitable one) is, together with calcium chloride, sprayed onto the dried granular material. Thrombin (and also fibrinogen) is stable in isopropanol, is not chemically altered thereby but does not dissolve in isopropanol. Thrombin, hence, will settle down on the granular material loaded with fibrinogen. Due to the absence of water, no premature coagulation will occur, e. g. already on the granular material during spray granulation. The mixed granular material comprising carrier, fibrinogen Factor XIII, and thrombin may be applied directly on the wound. The proportional ratio of fibrinogen to thrombin again corresponds to the ratio that has become known from the State-Of-The-Art. Solubility and, in connexion therewith, also coagulation will be enhanced with said mixed granular material, and that in particular also due to the absence of a considerable carrier material amount that, upon application, won't have to dissolve first.

(5) In order to enable a direct spraying of a thrombin-containing, aqueous solution (+  $\text{CaCl}_2$ ) onto presented granular fibrinogen material (prepared as per (1)), e. g. a well water-soluble barrier layer may, as an inner barrier and as a spatial separator of fibrinogen and thrombin, be applied to the granular fibrinogen material. For this barrier layer, the rule holds good that, on the one hand, both active materials may not be chemically altered thereby, that the barrier layer is well water-soluble, and that it will bring about an effective separation of fibrinogen and thrombin during spraying and granulating and also in its ultimate, stable-in-storage, solid, dried form. Suited for such a purpose are e. g. low-molecular polyvinylpyrrolidone or also cellulose derivative solutions or also carbohydrates (e. g. dextrose derivatives). Of the product thus prepared, the same characteristic with regard to solubility and coagulation can be expected as of the granular material produced according to (4).

Apart from that, also process variants are feasible, not making use of an additionally



presented carrier material.

(6) Due to a spraying of an aqueous fibrinogen solution or an isopropanol (resp organic) suspension into an empty installation, germs of a granular material resp finely distributed particles are generated in situ, which germs resp particles may serve as initiating cores for further granulation. The installation to be employed for such a purpose may be e. g. a spraying tower or also a fluid-bed installation including a sufficiently dimensioned stretch along which the sprayed liquid droplets can fly in unobstructed manner. When appropriate process conditions are adhered to, the sprayed liquid droplets can, in correspondence to the ratios of a spray drier (but with reduced drying temperatures), be dried in a fluid-bed installation prior to them, their state being e. g. still wet, contacting the container wall and remaining stuck thereto. These fine particles thus generated are kept moving and floating by the fluidisation gas and, thus, will come into contact with the spray mist of the liquid sprayed in continuously and, then, begin to granulate. In this way, a defined accretion of the granular material can be brought about in the originally empty installation, and that especially by a very careful operation of the process during start-up of the latter. All this may be assisted in e. g. by an addition of known binding agents. By way of a combination with a classifying discharge of granular material (e. g. via a pneumatic zigzag classifier and a classifying air stream), the possibility arises to generate granular material of a defined particle size in the installation and to run the process even in a continuous or quasi-continuous operation.

(7) As described under (4) or (5), thrombin with or without an additional barrier layer (resp coating) can be directly applied to the granular fibrinogen concentrate material generated according to (6).

.....



**Patent Claims**

1. Fibrin tissue adhesive formulation containing thrombin, fibrinogen, and Factor XIII,

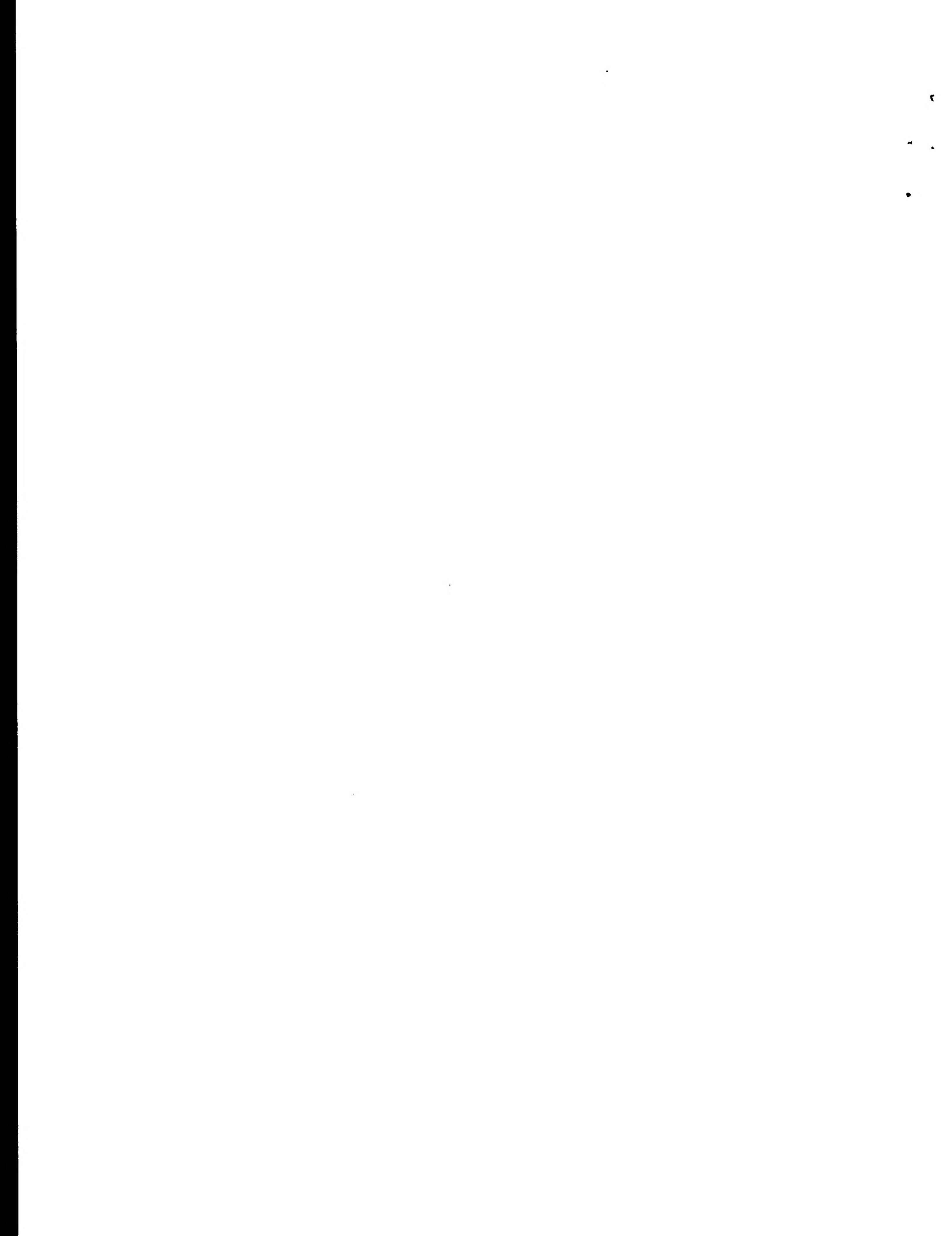
characterised in that

the thrombin and the fibrinogen with Factor XIII are present as a mixture in form of a flowable, solid, granular material, such granular material showing a particle size of from 20 to 1,000 µm.

2. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 1, characterised in that it has been obtained by drying the protein solutions or suspensions in a fluid-bed apparatus.
3. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 1 or 2, characterised in that the mixture consists of separately dried, granular thrombin and fibrinogen materials.
4. Fibrin tissue adhesive formulation according to one of Claims 1 to 3, characterised in that the granular thrombin and/or fibrinogen materials have a core serving as a carrier.
5. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 4, characterised in that the carrier is selected from water-soluble sugars and/or sugar substitutes and/or biological transport substances.
6. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 1, characterised in that the mixture is a mixed, granular material with which the thrombin constitutes the outer layer and the fibrinogen the inner core.



7. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 6, characterised in that the mixed, granular material consists of a core serving as a carrier of a fibrinogen layer placed thereon and an outer layer of thrombin.
8. Fibrin tissue adhesive formulation according to Claim 6 or 7, characterised in that a barrier layer is provided between the fibrinogen layer and the outer thrombin layer.
9. Fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 6 to 8, characterised in that the barrier layer has been prepared from low-molecular polyvinylpyrrolidone or cellulose derivative solutions or carbohydrate solutions by drying these solutions.
10. Fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 1 to 8, characterised in that the ratio of thrombin to fibrinogen with Factor XIII is within a range of from 1 : 10 to 1 : 1,000, preferably from 1 : 50 to 1 : 200.
11. Fibrin tissue adhesive formulation according to one of Claims 1 to 10, characterised in that the grain diameter of the granular material is within a range of from 30 to 500  $\mu\text{m}$ , preferably from 40 to 200  $\mu\text{m}$ .
12. Fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 1 to 11, characterised in that the granular thrombin materials and/or the granular fibrinogen materials and/or the mixed, granular materials are provided with an outer barrier layer.
13. Fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 1 to 12, characterised in that the thrombin and fibrinogen proteins have been prepared by genetecnological or biotechnological processes in recombinant fashion.



- 14. Fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 1 to 13, characterised in that it contains a calcium salt.
- 15. Process for preparing a fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 1 to 14, characterised in that the protein solutions or suspensions from fibrinogen with Factor XIII thrombin are sprayed into a fluid-bed chamber and dried by means of a fluidisation gas, the maximal product temperature not exceeding 50°C.
- 16. Process according to Claim 15, characterised in that, in a first step, a fibrinogen concentrate with Factor XIII from an aqueous solution is sprayed into the fluid-bed chamber and dried as well as isolated and that then, in a second step, the thrombin concentrate from an aqueous solution will be sprayed into the fluid-bed chamber, dried, and isolated and that, thereafter, the two obtained granular materials will then be intermixed.
- 17. Process for preparing a fibrin tissue adhesive formulation according to Patent Claim 15, characterised in that, in a first step, a fibrinogen concentrate from an aqueous solution is sprayed into the fluid-bed chamber and dried and that, then, thrombin from an organic suspension will be sprayed onto said dried, granular material.
- 18. Process for preparing a fibrin tissue adhesive formulation according to at least one of Claims 15 to 17, characterised in that the protein solutions are sprayed onto a presented carrier material.

